

AKTIVITAS ANTIKANKER DARI FRAKSI AKTIF TERIPANG

Anticancer Activity from Active Fraction of Sea Cucumber

Nurul Mutia Putram^{*1}, Iriani Setyaningsih¹, Kustiariyah Tarman¹,
Muhammad Nursid²

¹Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor
Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Jalan Agatis, Bogor 16680 Jawa Barat
Telepon (0251) 8622909-8622906, Faks. (0251) 8622915

²Divisi Bioteknologi, Pusat Penelitian dan Pengembangan Daya Saing Produk dan Bioteknologi Kelautan
dan Perikanan, Kementerian Kelautan dan Perikanan, Jalan KS Tubun Petamburan VI, Jakarta Pusat
10260, Telepon (021) 53650157, Faks. (021) 53650158

*Korespondensi: mutia.putram@gmail.com

Diterima: 17 Maret 2017/ Disetujui: 25 April 2017

Cara sitasi: Putram NM, Setyaningsih I, Tarman K, Nursid M. 2017. Aktivitas antikanker fraksi aktif teripang. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(1): 53-62.

Abstrak

Teripang *Holothuria atra* merupakan salah satu organisme laut yang banyak digunakan sebagai sumber senyawa bioaktif baru, sebagai senyawa utama dalam pencarian obat-obatan baru yang berpotensi sebagai antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktifitas fraksi aktif teripang (*H. atra*) sebagai antikanker. *H. atra* dimaserasi dalam etanol, dan ekstraknya dikering-bekukan menggunakan freeze dryer. Ekstrak kasar selanjutnya dipartisi menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan metanol-air (3:1:1). Uji sitotoksik dilakukan menggunakan sel HeLa (kanker serviks) dan sel MCF-7 (kanker payudara) berdasarkan metode MTT assay. Ekstrak kasar *H. atra* menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa dengan nilai $IC_{50} = 12,48 \mu\text{g/mL}$ dan terhadap sel MCF-7 dengan nilai $IC_{50} = 17,90 \mu\text{g/mL}$. Uji sitotoksik menunjukkan nilai IC_{50} fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol-air terhadap sel HeLa berturut-turut adalah $IC_{50} = 76,45 \mu\text{g/mL}$; $77,95 \mu\text{g/mL}$; $14,27 \mu\text{g/mL}$ dan pada sel MCF-7 berturut-turut adalah $IC_{50} = 58,50 \mu\text{g/mL}$; $59,59 \mu\text{g/mL}$; $14,33 \mu\text{g/mL}$.

Kata kunci: antikanker, *Holothuria atra*, MTT, sel HeLa, sel MCF-7

Abstract

Sea Cucumber *Holothuria atra* is one of marine organisms has been used as a new source of novel bioactive compounds. Many of them have been used as the lead compounds in discovery of new anticancer drugs. The objective of this study was to determine the active fractions of sea cucumber (*H. atra*) which have anticancer activity. *H. atra* was macerated using ethanol and the extract was freeze-dried using a freeze dryer. The crude extract was partitioned using n-hexane, ethyl acetate, and methanol-water (3:1:1). Cytotoxicity test was performed using HeLa (cervic cancer) cell line and MCF-7 (breast cancer) cell line based on the MTT assay. The crude extract of *H. atra* showed the best cytotoxic activity against HeLa cells ($IC_{50} = 12.48 \mu\text{g/mL}$) and MCF-7 cells ($IC_{50} = 17.90 \mu\text{g/mL}$). The toxicity tests showed the IC_{50} value of the n-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and methanol-water fraction against HeLa cells HeLa ($IC_{50} = 76.45 \mu\text{g/mL}$; $77.95 \mu\text{g/mL}$; $14.27 \mu\text{g/mL}$) and MCF-7 cells ($IC_{50} = 58.50 \mu\text{g/mL}$; $59.59 \mu\text{g/mL}$; $14.33 \mu\text{g/mL}$).

Keywords: anticancer, HeLa cells, *Holothuria atra*, MTT assay, MCF-7

PENDAHULUAN

Teripang merupakan komoditas perikanan yang bernilai ekonomis penting karena kandungan nutrisi yang tinggi, mudah didapatkan dan sejak lama dimanfaatkan

sebagai makanan yang dipercaya dapat menyembuhkan beberapa penyakit dan meningkatkan kesehatan. Produksi teripang pada tahun 2013 sebesar 4.390 ton dan meningkat pada tahun 2014 menjadi 5.428

ton (KKP 2015). Teripang memiliki manfaat kesehatan dan berpotensi sebagai bahan baku obat. Janakiram (2015) menyatakan bahwa ekstrak teripang mengandung senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan diantaranya triterpen glikosida yang dapat menghambat terjadinya radikal bebas sehingga dapat mencegah beberapa penyakit degeneratif misalnya penyakit jantung dan kanker.

Kanker adalah penyakit yang disebabkan oleh sel abnormal jaringan tubuh yang tumbuh dan berkembang dengan cepat serta tak terkendali. Tahun 2012 jenis kanker yang paling sering dijumpai pada wanita adalah kanker payudara (43,3%) dan kanker serviks (14%) (WHO 2012). Pengobatan penyakit kanker yang selama ini dilakukan adalah pembedahan, radioterapi, kemoterapi dan imunoterapi (Van de Velde 1999). Biaya kemoterapi dan pengobatan kanker tinggi namun tingkat keberhasilan terapi yang belum optimal, sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengkaji dan menemukan obat baru yang lebih efektif dan selektif. Pemanfaatan teripang terutama *Holothuria atra* sebagai antikanker belum banyak dilakukan.

Holothuria atra merupakan salah satu jenis teripang yang tidak bernilai ekonomis, disamping itu pemanfaatannya belum optimal karena kurang diminati oleh masyarakat. Dyck *et al.* (2010) menyebutkan bahwa *H. atra* diketahui mengandung saponin (triterpen glikosida) jenis holothurin A, holothurin A2, holothurin B, holothurin B1 dan holothurin B2. Wijaya (2015) melaporkan bahwa teripang *H. atra* yang berasal dari Lampung yang diekstrak menggunakan pelarut metanol memiliki rendemen sebesar 0,90% dan nilai IC_{50} sebesar 21,39 dan 21,05 $\mu\text{g/mL}$ terhadap sel T47D dan sel WiDr. Dinda (2016) melaporkan bahwa *H. atra* yang berasal dari Halmahera yang diekstrak dengan pelarut etanol memiliki rendemen sebesar 1,53% dan nilai IC_{50} sebesar 12,99 $\mu\text{g/mL}$ terhadap sel WiDr, 13,42 $\mu\text{g/mL}$ pada sel MCF-7 dan 44,51 $\mu\text{g/mL}$ pada sel Vero. Hasil penelitian di atas menunjukkan bahwa ekstrak etanol teripang (*H. atra*) bersifat toksik dan tidak selektif terhadap sel normal karena ekstrak yang digunakan masih dalam bentuk ekstrak kasar.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan fraksi aktif teripang (*H. atra*) yang berpotensi sebagai antikanker terhadap sel HeLa dan sel MCF-7.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah teripang beku (*H. atra*) yang diambil dari Perairan Jailolo, Halmahera, Maluku Utara. Sel HeLa dan sel MCF-7 didapatkan dari hasil kultur di Pusat Penelitian dan Pengembangan Daya Saing Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. Bahan lain yang digunakan meliputi bahan *doxorubicin*, *trypsin*-EDTA, media RPMI (Sigma), *Phosfat Buffer Saline* (PBS), 3-(4,5-di metilthiazolil-2,5-difenil tetrazolium bromide (Merck), Sodium Dodesil Sulfat (Sigma), DMSO (Merck), etanol 96%, metanol, TFA, n-heksana, diklorometana, etil asetat, air, pereaksi Meyer, pereaksi Wagner, pereaksi Dragendorff, anisaldehyd-asam sulfat, HCl dan FeCl_3 .

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah vacuum rotary evaporator (Buchi), *freeze dryer*, mikropipet, *laminar air flow* (Esco), *Multiwell culture disk* 96 lubang (Iwaki), *biosafety cabinet* (Faster), mikroskop *inverted* (Olympus), hemasitometer (Neubauer-assistant), *flask culture* (Nunc) dan inkubator CO_2 , spektrofotometri *microplate reader* (Thermo), kromatografi lapis tipis (KLT), dan kolom kromatografi (Merck).

Metode Penelitian

Sampel ekstrak teripang disiapkan dengan cara melelehkan 20 kg sampel teripang beku, dibersihkan dengan air mengalir, lalu ditiriskan. Sampel dipotong-potong kecil berukuran 2-3 cm^2 dan dimaserasi dalam etanol 96% selama 24 jam, setelah 24 jam perendaman diambil maseratnya dengan cara disaring menggunakan kertas saring Whatman 1 dan diulangi perendaman sampai 6 kali pada suhu ruang. Ekstrak yang diperoleh kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatman no.1, lalu filtrat yang diperoleh disentrifugasi dengan kecepatan 6.000 rpm pada suhu 4°C selama 10 menit,

filtrat dipekatkan dengan menggunakan vacuum rotary evaporator sampai didapat ekstrak kental dan ditimbang beratnya. Ekstrak kental kemudian dikeringbekukan menggunakan *freeze dryer* pada suhu 46°C selama 4 kali 24 jam, sampai didapatkan serbuk halus. Sampel dipartisi dalam corong pisah dengan pelarut metanol : air : n-heksana : etil asetat (3:1:1:1), dikocok dan dibiarkan memisah hingga diperoleh cairan jernih, yaitu fraksi n-heksana, etil asetat dan metanol-air. Ketiga fraksi ditampung dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga kering dan sampel siap untuk pengujian.

Uji fitokimia

Uji fitokimia yang dilakukan untuk mengetahui komponen bioaktif yang terdapat dalam ekstrak teripang mengacu pada metode yang digunakan Harborne (1987). Uji tersebut meliputi uji alkaloid, flavonoid, fenolik, steroid, triterpenoid dan saponin.

Analisis dengan KLT

Analisis dengan KLT mengacu pada metode Wagner (1996). Ekstrak teripang sebanyak 2 mg dilarutkan dalam 0,5 mL metanol; dan larutan ekstrak tersebut kemudian ditotolkan pada plat silika yang berukuran panjang 10 cm dan lebar 1,5 cm. Kombinasi pelarut n-heksana : etil asetat (1:5) digunakan sebagai eluen untuk memfraksinasi ekstrak. Penotolan dilakukan pada jarak ± 1 cm dari bawah plat KLT menggunakan pipa kapiler. Plat berukuran panjang 10 cm dielusi dengan cara meletakkannya secara vertikal di dalam bejana pengembang atau gelas kaca. Proses elusi dihentikan apabila eluen telah mencapai $\frac{3}{4}$ plat KLT. Noda-noda hasil pemisahan ini diamati dengan menyemprotkan pereaksi pada plat tetes sebanyak 2 lubang dan pada lubang lain ditambahkan asam sulfat pekat untuk menunjukkan adanya senyawa terpenoid/steroid dalam ekstrak.

Uji sitotoksik

Uji sitotoksitas dilakukan dengan metode (3-[4,5-dimetilthiazol-2-yl]-2,5-difeniltetrazolium bromida) yang mengacu pada metode CCRC (2013). Sel HeLa dan sel

MCF-7 dikultur dalam media RPMI (Roswell Park Memorial Institute) 1640 lengkap, yang mengandung Fetal Bovine Serum (FBS) 10%, fungizone 0,5% dan Penisilin-Streptomisin 2%. Ekstrak kasar, fraksi metanol-air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana *H. atra* sebanyak ± 1 mg dilarutkan kedalam 20 mL larutan dimetil sulfoksida (DMSO). Uji sitotoksik dilakukan menggunakan deret konsentrasi ekstrak 5, 10, 20, 40 dan 80 $\mu\text{g/mL}$ sebanyak tiga ulangan. Tiga jenis kontrol digunakan, yaitu : kontrol sel tumor (100 μL sel tumor + 100 μL media), kontrol media (200 μL media) dan kontrol sampel (100 μL ekstrak + 100 μL media). Larutan ekstrak sebanyak 100 μL dimasukkan ke dalam mikrolat 96 sumuran; dan mikrolat kemudian diinkubasikan selama 24 jam dalam inkubator CO_2 . MTT sebanyak 100 μL ditambahkan ke dalam tiap sumuran mikrolat dan diinkubasikan kembali selama 4 jam dalam inkubator CO_2 . Reaksi MTT dihentikan dengan penambahan sodium dodesil sulfat (SDS) 10%. Mikrolat kemudian diinkubasikan kembali selama 12 jam dalam ruang gelap pada suhu kamar. Absorbansi tiap sumur dibaca dengan spektrofotometri microplate reader pada panjang gelombang 570 nm. Jumlah sel yang mati dinyatakan dalam % yang dihitung berdasarkan rumus:

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Absorbansi sel hidup pada kontrol
(kontrol sel – kontrol media)

B = Absorbansi sel hidup pada perlakuan sampel
(perlakuan sampel- kontrol sampel)

Persentase daya hambat sel digunakan untuk mencari IC_{50} . Persen penghambatan dikonversi menjadi harga probit versus log konsentrasi. Persamaan garis linier yang diperoleh digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} .

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak kasar teripang

Rendemen ekstrak merupakan perbandingan berat hasil akhir ekstrak dengan berat bahan awal sebelum diekstraksi. Ekstraksi dilakukan untuk memisahkan komponen senyawa aktif dari suatu bahan

campuran dan dapat dilakukan menggunakan pelarut. Rendemen ekstrak teripang (*H. atra*) yang diperoleh adalah 171,57 g atau sekitar 0,77% dari total 20 kg sampel teripang. Karlina *et al.* (2011) melaporkan bahwa ekstrak kasar teripang pasir (*H. scabra*) dengan pelarut metanol memiliki rendemen sebesar 1,3%. Trianto *et al.* (2004) menyatakan bahwa hasil ekstrak akan sangat bergantung pada beberapa faktor, yaitu jenis pelarut, metode ekstraksi yang digunakan, ukuran partikel sampel, kondisi dan waktu penyimpanan, lama waktu ekstraksi, serta perbandingan jumlah pelarut terhadap jumlah sampel. Hasil uji fitokimia ekstrak kasar *H. atra* dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil analisis komponen aktif menunjukkan ekstrak kasar *H. atra* positif mengandung senyawa alkaloid. Dhinakaran dan Lipton (2015) melaporkan bahwa ekstrak kasar teripang jenis *H. atra* diketahui mengandung senyawa alkaloid yang berperan pada aktivitas analgesik, anti-inflamasi, antifungi, antikanker dan antioksidan. Fajarullah (2014) menunjukkan bahwa senyawa alkaloid pada lamun *Thalassodendron ciliatum* dapat menghambat pertumbuhan sel kanker kolon dengan nilai IC_{50} 32,68 $\mu\text{g/mL}$.

Ekstrak kasar *H. atra* terdeteksi positif mengandung golongan senyawa flavonoid dengan adanya pembentukan warna merah setelah penambahan asam sulfat. Saroya (2011) menyatakan bahwa flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar yang termasuk kedalam kelompok penting dari polifenol dan secara luas terdistribusi pada organisme darat maupun laut, terutama tumbuhan. Senyawa ini diketahui memiliki aktivitas anti

hipertensi (Nurrani *et al.* 2014), antibakteri, anti-inflamasi dan antioksidan yang ditandai dengan adanya gugus -OH dan -OR (Andayani *et al.* 2008).

Steroid dan terpenoid juga terdeteksi pada ekstrak kasar *H. atra*. Hasil uji positif triterpenoid ditandai dengan adanya pembentukan warna merah hingga jingga. Doughari (2012) yang menyatakan bahwa steroid dan triterpenoid pada teripang memiliki manfaat sebagai anti-inflamasi, antikanker, penenang dan insektisida. Suryaningrum (2008) menunjukkan senyawa aktif teripang golongan steroid/triterpenoid dapat menghambat pertumbuhan tumor pada sel tumor paru manusia dan sel tumor serviks dengan IC_{50} 2,38 dan 2,46 $\mu\text{g/mL}$.

Saponin (triterpen glikosida) merupakan glikosida kompleks triterpen dengan molekul karbohidrat yang banyak ditemui pada tumbuhan, bakteri maupun organisme laut yang banyak memiliki aktivitas biologis, seperti antifungi, antibakteri dan antikanker. Dyck *et al.* (2010) menunjukkan kandungan saponin pada teripang *H. atra* banyak terdapat pada bagian dinding tubuh dengan beberapa jenis saponin (triterpen glikosida) yang telah teridentifikasi, antara lain : (1) holothurin B1 (2) holothurin B2 (3) holothurin B3 dan (4) holothurin B/B4 yang memiliki aktivitas sebagai antikanker.

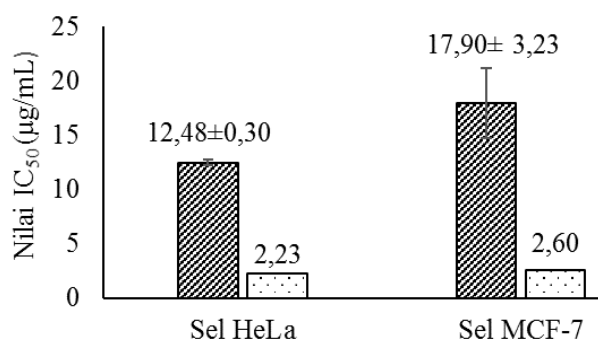
Aktivitas antikanker ekstrak kasar

Nilai IC_{50} merupakan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel kanker sebanyak 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel (Son dan Anh 2013). Nilai IC_{50} ditentukan dari

Tabel 1 Hasil uji fitokimia ekstrak kasar *H. atra*

Golongan senyawa	Hasil
Alkaloid	
Dragendorff	(+)
Meyer	(+)
Wagner	(+)
Flavonoid	(+)
Steroid-Triterpenoid	(+)
Fenol	(-)
Saponin	(+)

Keterangan: (+) Terdeteksi, (-) Tidak terdeteksi



Gambar 1 Nilai IC_{50} penghambatan ekstrak kasar teripang *H. atra* dan *doxorubicin*.
 ■ Ekstrak kasar, □ doxorubicin

persamaan yang terbentuk dari kurva regresi linier antara probit persen penghambatan dan log konsentrasi. Persamaan garis linier yang diperoleh digunakan untuk mencari nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} ekstrak kasar teripang *H. atra* terhadap sel HeLa dan sel MCF-7 dapat dilihat pada Gambar 1.

Doxorubicin memiliki nilai IC_{50} jauh lebih kuat dibandingkan pengaruh ekstrak kasar *H. atra* terhadap sel kanker HeLa dan MCF-7 dengan nilai IC_{50} sebesar 2,23 dan 2,60 µg/mL. Hal tersebut dikarenakan doxorubicin merupakan obat kanker yang telah teruji aktivitasnya dan pengaruh *doxorubicin* yang lebih sensitif terhadap sel kanker HeLa dan MCF-7. Nilai IC_{50} pada ekstrak tidak setinggi obat kanker doxorubicin, akan tetapi hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kasar *H. atra* bersifat toksik. Suzery dan Cahyono (2014) melaporkan bahwa ekstrak kasar *H. edulis* memiliki nilai IC_{50} sebesar 22,39 µg/mL dan 14,42 µg/mL pada sel HeLa dan sel MCF-7. Inayah *et al.* (2012) melaporkan bahwa senyawa aktif teripang *H. scabra* dapat menghambat sel kanker payudara T47D dan sel kanker rahim HeLa dengan IC_{50} 28,03 dan 18,09 µg/mL. Suatu ekstrak dinyatakan aktif memiliki aktivitas antikanker apabila memiliki nilai $IC_{50} < 30$ µg/mL, sedang aktif apabila memiliki nilai $IC_{50} \geq 30$ µg/mL dan $IC_{50} < 100$ µg/mL dan dikatakan tidak aktif apabila nilai $IC_{50} > 100$ µg/mL National Cancer Institute (2001).

Fraksi *Holothuria atra* hasil partisi cair-cair

Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan senyawa-senyawa pada ekstrak kasar

H. atra berdasarkan tingkat kepolarannya menggunakan pelarut n-heksana (non-polar), etil asetat (semi-polar), dan metanol-air (polar). Hasil fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi metanol-air teripang *H. atra* ditunjukkan pada tabel 2.

Rendemen hasil fraksinasi ekstrak kasar *H. atra* yang paling banyak adalah fraksi metanol-air sebesar 75,64% diikuti fraksi etil asetat 26,70% dan n-heksana 17,73%. Albuntana *et al.* (2011) melaporkan bahwa dengan menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol-air pada empat jenis teripang didapatkan hasil ekstrak kasar teripang paling besar pada pelarut metanol-air sebesar 95,6%. Hal ini dikarenakan ekstrak kasar *H. atra* lebih banyak mengandung senyawa yang bersifat polar, yang mampu melarutkan senyawa polar misalnya fenolik dan gula, sehingga ekstrak dari pelarut metanol lebih banyak dibandingkan ekstrak dari pelarut n-heksana dan etil asetat. Lapornik *et al.* (2005) menyatakan bahwa pelarut metanol mampu mengekstrak komponen yang berasal dari golongan alkaloid, fenolik, steroid, triterpenoid, tanin dan saponin, selain itu pelarut metanol juga memiliki sifat kurang polar dibandingkan air, sehingga pelarut metanol mampu untuk menghancurkan dinding sel dan menyebabkan komponen-komponen dalam sel hancur dan larut dalam pelarut metanol.

Profil kromatogram menunjukkan hasil kromatografi lapis tipis pada fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi metanol-air yang divisualisasi pada cahaya tampak (pereaksi anisaldehid-H₂SO₄). Pemisahan spot ini dikarenakan oleh perbedaan tingkat

Tabel 2 Rendemen hasil fraksi heksan, fraksi etil asetat dan fraksi metanol-air (*H. atra*)

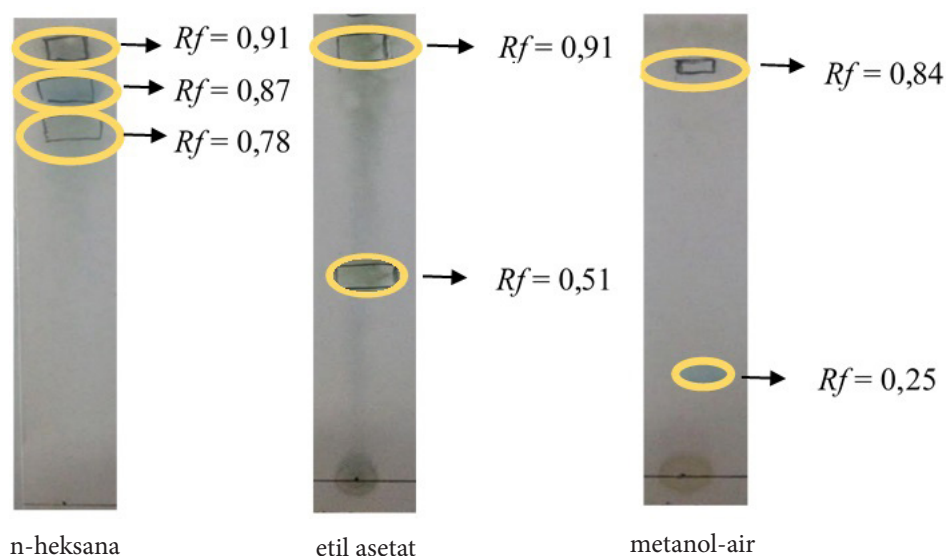
Sampel	Persentase rendemen (%)	Rf	Warna	Senyawa
Fraksi n-heksana	17,73	0,78;0,87;0,91	Biru dan kuning	Steroid/triterpenoid dan fenol
Fraksi etil asetat	26,70	0,51;0,91	Biru keunguan	Steroid/triterpenoid
Fraksi metanol-air	75,64	0,25;0,84	Biru	Steroid/triterpenoid

kepolaran senyawa pada setiap fraksi. Fraksi heksan memiliki nilai $R_f = 0,91; 0,87; 0,78$, fraksi etil asetat memiliki nilai $R_f = 0,51; 0,91$ sedangkan fraksi metanol-air ($R_f = 0,25; 0,84$) (Gambar 2). Penyemprotan masing-masing fraksi dengan pereaksi anisaldehid dan H_2SO_4 memberikan warna yang berbeda-beda. Hasil pewarnaan pada masing-masing kromatogram menunjukkan warna biru, ungu dan kuning. Senyawa yang terdeteksi diantaranya fenol dan steroid/triterpenoid. Wagner dan Bladt (1996) menyatakan bahwa senyawa steroid/triterpenoid yang ditandai dengan warna biru sampai ungu dan senyawa fenol ditandai dengan warna kuning sampai coklat. Hardyani (2011) menyatakan bahwa steroid/triterpenoid merupakan jenis saponin pada teripang yang dapat menghambat mekanisme pembelahan dan memicu apoptosis sel kanker. Suryaningrum (2008) menunjukkan senyawa aktif teripang golongan steroid/triterpenoid dapat menghambat pertumbuhan tumor pada sel tumor paru

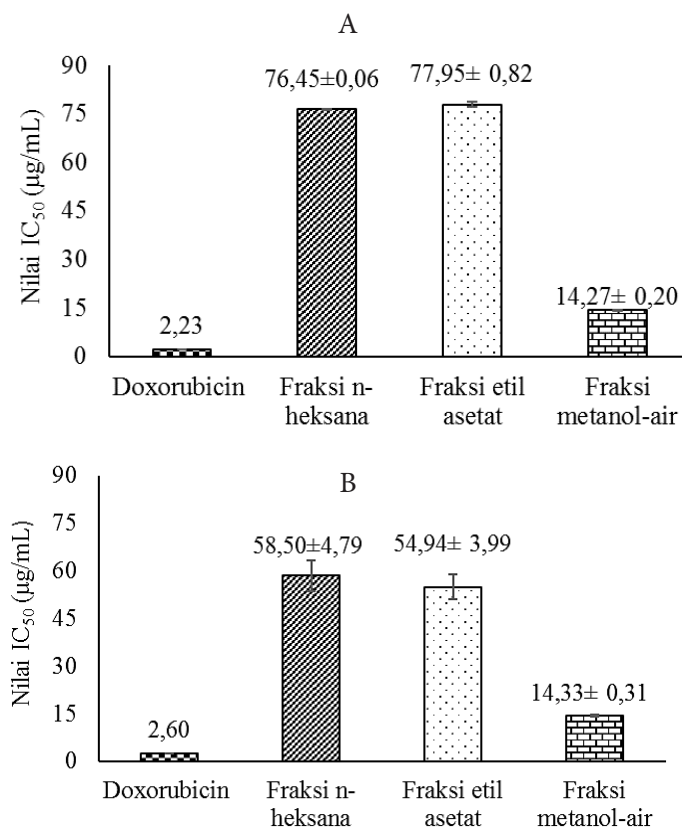
manusia dan sel tumor serviks dengan IC_{50} 2,38 dan 2,46 $\mu\text{g/mL}$.

Hasil pemisahan senyawa fraksi heksan, etil asetat dan metanol-air kemudian diuji sitotoksitas pada sel HeLa dan sel MCF-7. Nilai IC_{50} fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol-air teripang *H. atra* terhadap sel HeLa dan sel MCF-7 dapat dilihat pada Gambar 3.

Hasil uji sitotoksik menunjukkan fraksi metanol-air lebih toksik terhadap sel HeLa dan sel MCF-7 dibandingkan fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat. Fraksi n-heksana teripang *Holothuria fuscocinerea* memiliki nilai IC_{50} 162,76 $\mu\text{g/mL}$, fraksi etil asetat memiliki nilai IC_{50} 143,96 $\mu\text{g/mL}$ dan fraksi metanol-air 38,58 $\mu\text{g/mL}$ pada sel HeLa (Bambang 2013). Nimah *et al.* (2012) melaporkan bahwa hasil uji sitotoksik teripang pasir (*H. scabra*) pada fraksi n-heksana memiliki nilai IC_{50} sebesar 62,86 $\mu\text{g/mL}$, fraksi etil asetat sebesar 43,56 $\mu\text{g/mL}$ dan fraksi metanol-air sebesar 18,85 $\mu\text{g/mL}$. Aktivitas sitotoksik pada



Gambar 2 Profil kromatogram hasil kromatografi lapis tipis



Gambar 3 Nilai IC_{50} Doxorubicin, fraksi heksan, fraksi etil asetat dan fraksi metanol-air terhadap sel HeLa (A) dan sel MCF-7 (B)

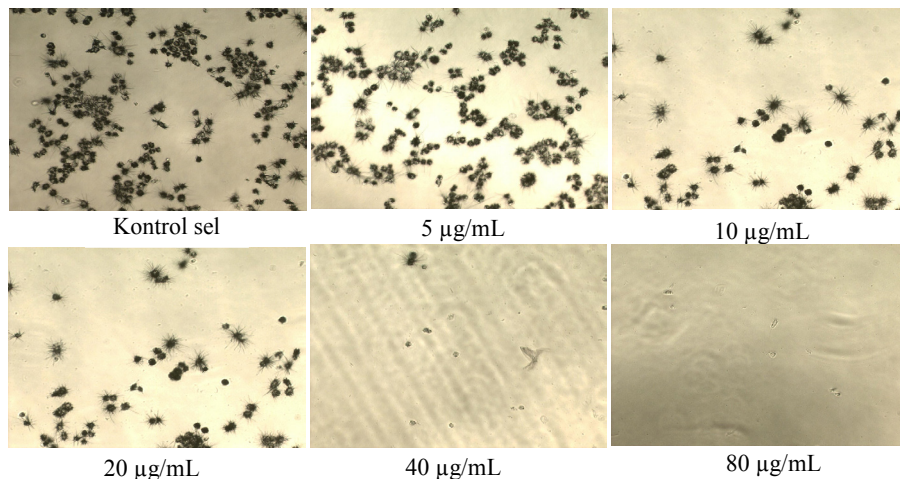
fraksi metanol-air yang tinggi diduga karena mengandung senyawa triterpen glikosida yang larut dalam pelarut polar. Triterpen glikosida merupakan jenis saponin pada teripang yang strukturnya mengandung gugus gula. Senyawa triterpen glikosida merupakan senyawa yang dapat menghambat mekanisme pembelahan dan memicu apoptosis sel kanker. Saponin pada teripang mengandung gugus gula terutama glukosa, galaktosa, xilosa, ramnosa atau metilpentosa yang berikatan dengan aglikon saponin berupa triterpenoid atau steroid yang memiliki aktivitas antikanker (Usman 2014). Dyck *et al.* (2010) menyatakan bahwa teripang *H. atra* memiliki keunikan karena adanya gugus sulfat pada senyawa saponin (triterpen glikosida). Senyawa-senyawa tersebut antara lain holothurin B1, B2, B3 dan B/B4. Triterpen glikosida sulfat dianggap lebih mudah larut ke dalam pelarut polar dan lebih kuat sebagai racun (toxin). Aras (2013) melaporkan bahwa senyawa triterpen glikosida pada teripang (*H. scabra*) menunjukkan efek yang signifikan terhadap

penghambatan viabilitas sel kanker prostat dan sel kanker endometrium dengan IC_{50} 7,98 dan 5,90 $\mu\text{g/mL}$.

Morfologi sel HeLa dan sel MCF-7

Perubahan morfologi sel merupakan salah satu tanda terjadinya aktivitas sitotoksik yang dihasilkan dari suatu senyawa setelah dilakukan perlakuan terhadap sel apabila dibandingkan dengan kontrol sel. Aktivitas sitotoksik sel kanker HeLa dan MCF-7 juga dapat diamati secara mikroskopis pada pembesaran 400x untuk melihat morfologi sel HeLa dan MCF-7 tanpa pemberian ekstrak dan setelah pemberian ekstrak pada beberapa konsentrasi. Hasil uji tersaji pada Gambar 4 dan Gambar 5.

Hasil pengamatan sel HeLa dan MCF-7 dengan menggunakan mikroskop menunjukkan adanya perbedaan morfologi sel sebelum dan setelah penambahan ekstrak dengan reagen MTT. Gambar 4 dan 5 menunjukkan semakin meningkatnya konsentrasi, kristal formazan yang terbentuk

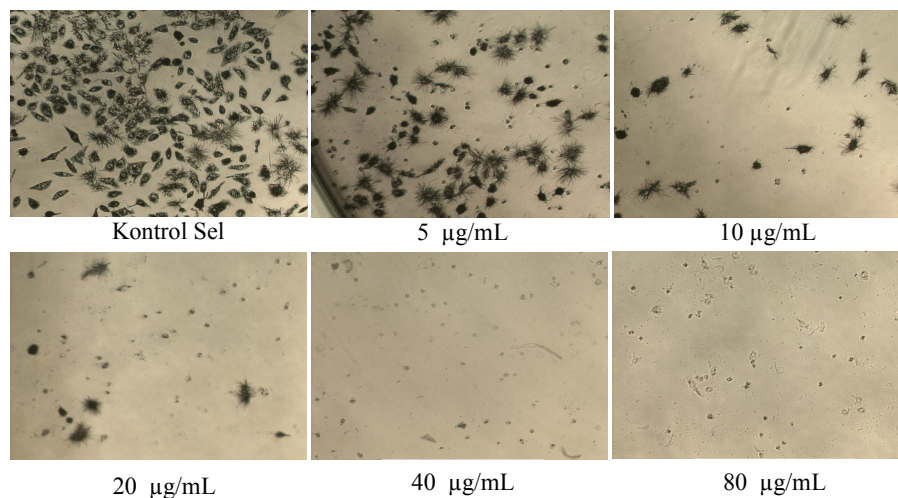


Gambar 4 Morfologi sel setelah pemberian fraksi metanol-air dengan reagen MTT terhadap sel HeLa

semakin berkurang artinya makin sedikit sel yang masih hidup. Kalantzi dan Biskos (2014) menyatakan bahwa kristal formazan tersebut berbentuk seperti kristal-kristal tajam berduri yang berwarna hitam apabila diamati di bawah mikroskop, sedangkan yang berwarna hitam dan berbentuk tidak beraturan tersebut merupakan sel-sel yang telah mati. Nursid *et al.* (2010) menyatakan bahwa semakin banyak sel yang mati maka semakin sedikit kristal formazan yang terbentuk demikian pula sebaliknya. Sel-sel yang mati karena perlakuan ekstrak kemungkinan besar tidak memiliki lagi enzim mitokondrial reduktase sehingga pada saat diberi MTT dalam mikropelat uji, MTT tidak mengalami

perubahan menjadi kristal formazan. Nursid *et al.* (2009) menyatakan bahwa perubahan morfologi sel sebagai akibat dari paparan senyawa aktif atau agen kemoterapi tertentu merupakan refleksi dari kondisi biokimia yang dapat berujung pada kematian sel baik secara apoptosis maupun nekrosis.

Nursid *et al.* (2013) menyatakan bahwa apoptosis merupakan suatu proses aktif yang membutuhkan transkripsi dan translasi gen-gen spesifik tertentu dan juga memerlukan penggunaan sumber energi intraseluler, sedangkan nekrosis merupakan kematian sel dengan keadaan patologis. Perbedaan mekanisme mendasar pada kedua tipe kematian sel tersebut terefleksi pada morfologi



Gambar 5 Morfologi sel setelah pemberian fraksi metanol-air dengan reagen MTT terhadap sel MCF-7

sel-sel yang mengalami kematian. Sel-sel yang mengalami apoptosis, volume sitoplasmanya berkurang, inti sel menyusut, membran dan organel-organel tetap menyatu, sebaliknya pada sel-sel yang mengalami nekrosis, sel terlihat menggelembung atau mengalami pembengkakan, inti sel mengalami lisis, membran plasma dan membran inti rusak dan organel-organel sel mengalami desintegrasi (Ghobrial *et al.* 2005).

KESIMPULAN

Fraksi aktif dari teripang *Holothuria atra* yang memiliki aktivitas sebagai antikanker adalah fraksi metanol air dengan nilai IC_{50} sebesar 14,27 $\mu\text{g/mL}$ terhadap sel HeLa dan 14,33 $\mu\text{g/mL}$ pada sel MCF-7.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Pusat Penelitian dan Pengembangan Daya Saing Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan (P3DSPBKP) selaku instansi yang telah memberikan bantuan fasilitas dan pendanaan penelitian ini yang dibiayai oleh APBN tahun 2015.

DAFTAR PUSTAKA

- Albuntana, Yasman W, Wisnu. 2001. Uji toksisitas ekstrak empat jenis teripang suku holothuridae dari Pulau Penjalinan Timur, Kepulauan Seribu, Jakarta, menggunakan *brine shrimp lethality test* (BSLT). Jakarta (ID): Universitas Indonesia.
- Aras TR. 2013. Uji toksisitas teripang (*Holothuria scabra*). *Berkala Perikanan Terubuk* 39(2): 9-16.
- Andayani R, Lisawati Y, Maimunah. 2008. Penentuan aktivitas antioksidan, kadar fenolat total dan likopen pada buah tomat (*Solanum lycopersicum* L.). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi* 13(1): 1-9.
- [CCRC] Cancer Chemoprevention Research Center. 2013. Protokol Uji Sitotoksik dengan Metode MTT. Yogyakarta (ID): CCRC.
- Dhinakaran DJ, Lipton AP. 2014. Bioactive compounds from *Holothuria atra* of Indian ocean. *Journal of Biopharmacy* 4(35) : 36-43.
- Dinda ADF. 2016. Sitotoksitas ekstrak etanol teripang hitam (*Holothuria atra*) terhadap Sel WiDr, Sel MCF-7 dan Sel Vero. [skripsi]. Jakarta (ID): Universitas Pancasila.
- Doughari JH. 2012. Phytochemicals: extraction methods, basic structures and mode of action as potential chemotherapeutic agents. In: phytochemicals – A global perspective of their role in nutrition and health. Ed ke-5. Kroasia (UK): Rao. InTech.
- Dyck SV, Gerbaux P, Patrick F. 2010. Qualitative and quantitative saponin contents in five sea cucumbers from the Indian Ocean. *Marine Drugs*. 8: 173-189.
- Fajarullah A, Irawan H, Pratomo A. 2014. Ekstraksi senyawa metabolit sekunder lamun *Thalassodendron ciliatum* pada pelarut berbeda. *Journal Umrah*. 3(1):1-15.
- Ghobrial IM, Witzig TE, Adjei AA. 2005. Targeting Apoptosis Pathways in Cancer Therapy. *Cancer Journal for Clinicians*. 55: 178-194.
- Harborne JB. 1987. Metode Fitokimia. Ed ke-2. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Hardyanti F. 2011. Komponen bioaktif dan aktivitas antioksidan anemon laut (*Stichodactyla gigantea*) [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Inayah N, Ningsih R, Aji TK. 2012. Uji toksisitas dan identifikasi awal golongan senyawa aktif ekstrak etanol dan n-heksana teripang pasir (*Holothuria scabra*) kering Pantai Kenjeran, Surabaya. *Jurnal Alchemy*. 2(1): 92-100.
- Janakiram NB, Mohammed A, Chinthalapally VR. Sea cucumbers metabolites as potent anti-cancer agents. *Marine Drugs*. 13: 2909-2923.
- Kalantzi OI, Biskos G. 2014. Methods for assessing basic particle properties and cytotoxic of engineered nanoparticles. *Toxics*. 2: 79-91.
- [KKP] Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2015. Statistik perikanan tangkap indonesia. Jakarta (ID): Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Lapornik B, Prosek, Wondra AG. 2005. Comparison of extract prepared from

- plant by – product using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering* 71(2): 214-222.
- National Cancer Institute. 2001. Measuring Cancer Death. <http://www.cancer.gov/csr>. [Diakses Februari 2017].
- Nimah S, Ma'ruf WF, Trianto A. 2012. Uji bioaktivitas ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap sel kanker payudara T47D. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*. 1(2): 1-9.
- Nurrani L, Kinho J, Tabbas S. 2014. Kandungan bahan aktif dan toksisitas tumbuhan hutan asal Sulawesi Utara yang berpotensi sebagai obat. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*. 32(1): 128-138.
- Nursid M, Fajarningsih ND, Wikanta T. 2009. Isolation of cytotoxic compound from *Nephtea* sp. soft coral. *Journal of Biotechnology Research in Tropical Region*. 2(1): 1-5.
- Nursid M, Pratitis A, Chanasah E. 2010. Kultivasi teripang MFW-01-08 yang diisolasi dari ascidia *Aplidium longithorax* dan uji aktivitas sitotoksiknya terhadap sel Kanker payudara T47D. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 5(2): 103-110.
- Nursid M, Fajarningsih ND, Chasanah E. 2013. Cytotoxic activity and apoptosis induction of T47D cell lines by *Turbinaria decurrens* Extract. *Squalen*. 8(1): 23-28.
- Saroya AS. 2011. Herbalism, Phytochemistry and Ethnopharmacology. New York (US): Science Publishers.
- Son HL, Anh NP. 2013. Phytochemical composition, in vitro antioxidant and anticancer activities of quercetin from methanol extract of *Asparagus cochinchinensis*. *Academic Journal*. 7(46): 3360-3366.
- Suryaningrum TD. 2008. Teripang: potensinya sebagai bahan nutraceutical dan teknologi pengolahannya. *Squalen*. 3(2): 63-69.
- Suzery M, Cahyono B. 2014. Efek sitotoksik ekstrak teripang *Holothuria edulis* menggunakan metode BSLT dan MTT. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 22(3): 84-88.
- Trianto A, Wibowo E, Suryono, Sapta RS. 2004. Ekstrak daun mangrove *Aegiceras corniculatum* sebagai antibakteri *Vibrio harveyi* dan *Vibrio parahaemolyticus*. *Jurnal Ilmu Kelautan*. 9(4): 186-189.
- Usman H. 2014. Kimia Organik Bahan Alam Laut. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Van De Velde CJH, Bosman FT, Wagener DJ. 1999. Onkologi. Ed ke-5. Yogyakarta (ID): Gadjah Mada University Press.
- Voight R. 1994. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. Yogyakarta (ID): Gadjah Mada University Press.
- Wagner H, Bland S. 1996. Plant Drug Analysis; A Thin Layer Chromatography Atlas. Ed ke-2. Germany (DE): Berlin Heidelberg-Springer.
- [WHO] World Health Organization. 2015. World Health Statistic. Switzerland (CH): WHO Press.
- Wijaya FA. 2015. Aktivitas antikanker senyawa metabolit sekunder teripang *Holothuria atra* terhadap sel kanker T47D dan WiDr. [skripsi]. Purwokerto (ID): Universitas Soedirman.